

**REMARKS**

Review and reconsideration on the merits are requested.

**Formalities**

Applicants appreciate the Examiner acknowledging receipt of the single priority document from the International Bureau, and appreciate the Examiner returning MODIFIED PTO/SB/08 filed February 8, 2005, noting that Japanese Journal of Clinical Medicine was not initialed.

**DETAILED ACTION**

**Information Disclosure Statement**

Applicants advise that with respect to the NPL reference from the Japanese Journal of Clinical Medicine, they are preparing an English translation of at least the Abstract of this reference, and will submit the same as soon as possible.

As soon as the English translation is received, they will also submit a supplemental IDS.

**DOUBLE PATENTING**

Since the obviousness-type double patenting is simply provisional at present and neither the present application nor Application No. 10/519,102 are in condition for allowance at this time, Applicants defer commenting upon the provisional obviousness-type double patenting rejection until one of the applications is in condition for allowance.

**Claim Rejections - 35 U.S.C. §102**

Applicants cancel all composition claims, mooting a number of the rejections.

However, they pursue method claims 11-13, all of which are amended, cancel claims 14 and 15 with this amendment, noting that claim 16 has already been canceled, and add new claims 17-25.

## **BASIS FOR CLAIM AMENDMENT**

### **Claim 11**

Page 8, lines 11-15 and 18-25, especially lines 21/22, and claim 10 as filed.

### **Claim 17**

Page 15, lines 3-9.

### **Claims 18+**

Page 6, line 24 - page 7, line 8, especially page 7, lines 1-3.

### **The Prior Art Applied to Still Active Claims**

Ohnota et al (Ohnota) - Reference U on PTO-892; WO 00/71117 Ouchi et al (Ouchi - using EP 1179342 A1, the English equivalent).

### **The Rejections**

The following rejections are mooted by canceling the rejected claims: claims 1-10 and claims 14-16.

This would leave the following rejections:

Claims 11-12 as anticipated by Ohnota. Page 5 of the Action.

Claim 13 as obvious over Ohnota in view of Ouchi.

The Examiner's position is set forth in the Action and will not be repeated here except as necessary to an understanding of Applicants' traversal which is now presented.

### **Traversal**

Chronic diabetic complications are generally classified into two groups.

(A) Microvascular complications such as diabetic retinopathy, diabetic nephropathy, diabetic neuropathy and the like.

(B) More serious diseases sometimes called macrovascular diseases which include arteriosclerotic diseases such as ischemic heart disease, cerebrovascular disease, arteriosclerosis obliterans and the like.

It has been believed that microvascular complications are mainly caused by a long-lasting hypoglycemic state, followed by tissue glycation. As a consequence, as disclosed in the present specification at page 4, lines 6-9, HbA<sub>1C</sub> and fasting blood glucose levels have been viewed as excellent indexes for the diagnosis and treatment of diabetes. They have also been the focus on how to prevent diabetic microvascular complications, including the earlier indicated three major complications, nephropathy, retinopathy and neuropathy.

As opposed to microvascular complications, it has been considered that macrovascular diseases are closely related to oxidative stress caused by postprandial and a precipitous glucose increase called "glucose spike". In more detail, glucose spike causes oxidative stress followed by damaging major blood vessels and, consequently, this leads to macrovascular diseases. The term "glucose spike" is a term commonly used by one skilled in the art to express intermittent postprandial blood glucose elevation. However, one can use another expression such as "intermittent postprandial blood glucose elevation" instead of "glucose spike".

As a consequence, recently postprandial blood glucose levels have drawn substantial attention as a very important factor in the treatment of diabetic macrovascular complications. Since arteriosclerotic diseases (macrovascular diseases) are more serious diabetic complications than microvascular diseases, there has been a great demand for a drug or pharmaceutical which can lower postprandial blood glucose levels in addition to lowering HbA<sub>1C</sub> and fasting blood glucose levels.

As an index of postprandial hyperglycemia, blood glucose levels two hours after a glycemic load have been used. However, it has recently been reported that the peak of postprandial hyperglycemia is earlier than two hours, that is, that the peak of postprandial hyperglycemia is one hour after a meal, with ensuing delayed and excessive insulin secretion, meaning that the postprandial increase of the insulin level occurs late, as is seen in diabetic patients. As a consequence, by stimulating earlier stage postprandial insulin secretion, changes in blood glucose level can be brought closer to normal.

Insulin is a kind of hormone and plays a role in lowering blood glucose levels. Mitiglinide calcium salt hydrate of the present invention is a rapid- and short-acting insulin secretagogue (secretion enhancer) as described at page 4, lines 20-25, in the specification. In normal subjects, when the blood glucose level increases after starting a meal, insulin is promptly secreted and, as a result, a postprandial large increase of blood glucose can be suppressed. On the other hand, in diabetic patients, even when blood glucose levels increase after starting a meal, insulin secretion does not promptly occur, that is, there is delayed insulin secretion, and, therefore, the postprandial blood glucose level becomes higher than normal. In addition, the peak of postprandial high blood glucose is earlier than 2 hours after a meal in both normal subjects and diabetic patients. Attached is a reference (in Japanese) which supports these remarks. Please see Fig. 1 at page 28. The upper line of figures are blood glucose levels after a meal in NGT (normal glucose tolerance) to DM (diabetes mellitus), and the lower line of figures are insulin levels. It can be seen that in the DM group, insulin secretion occurs later than in the NGT group and the peaks of blood glucose level are earlier than 120 minutes in all groups. An English translation in part will be filed as soon as it is available.

The  $\alpha$ -glucosidase inhibitors are well known as drugs which inhibit early stage postprandial hyperglycemia. Surprisingly, with the method of the present invention, it has been discovered that mitiglinide exerts excellent effects at 1 hour and at 2 hours with respect to postprandial plasma glucose levels as well as fasting plasma glucose levels, as compared with voglibose, another known  $\alpha$ -glucosidase inhibitor. This was shown in the clinical study given in the present application in Example 3, with the results being reflected in Tables 3 and 4.

Applicants respectfully submit, that with this in mind, the invention of the claims as amended is both novel and unobvious.

In more detail on voglibose, one of the  $\alpha$ -glucosidase inhibitors, this is a known drug which can inhibit early-stage postprandial hyperglycemia. As shown in Example 3 herein, including Tables 3 and 5, mitiglinide calcium salt hydrate (a present invention compound) exerted a substantially greater potent activity than voglibose (positive control group) in fasting plasma glucose (Table 3) as well as 1 hour and 2 hour values of postprandial plasma glucose (Table 4) without a greater frequency of hypoglycemic symptoms as compared to voglibose (Table 5).

Further, in order to suppress postprandial hyperglycemia without causing hypoglycemia between meals, generally a rapid and short acting drug which very quickly and strongly lowers postprandial blood glucose is considered to be desirable. For example, sulfonylurea anti-diabetics greatly lower postprandial hyperglycemia but sometimes result in hypoglycemia between meals.

On the other hand, a short acting drug which only lowers postprandial blood glucose levels is unlikely to lower fasting blood glucose levels, for instance, an  $\alpha$ -glucosidase inhibitor such as voglibose.

Considering these factors, it was considered very difficult in the art to achieve these incompatible effects at the same time, especially considering the effects of pharmaceuticals such as sulfonyl urea anti-diabetics and  $\alpha$ -glucosidase inhibitors.

Applicants would now like to turn to the prior art relied upon by the Examiner, namely Ohnota and EP '342, the other prior art relied upon being applied against only claims which have been canceled.

Ohnota teaches KAD-1229 (mitiglinide calcium hydrate) is a promising antidiabetic agent because its rapid and short action would produce stricter and safer control of plasma glucose levels in NIDDM patients. However, since Ohnota shows only data of plasma glucose level in fasted rats or dogs, even if a dosage in the range of 0.3 to 3.0 mg/kg for fasting plasma glucose control is described, Ohnota does not teach or suggest anything to one of ordinary skill in a suitable dosage regimen and a suitable dosage timing regimen in order to achieve the above-mentioned unexpected effect such as controlling circadian blood glucose changes in a diabetic patient (type II diabetes) so as to make the same close to that of a healthy subject.

EP '342 teaches a formulation comprising mitiglinide calcium hydrate with added silicon dioxide and/or pregelatinized starch for use in treating diabetes. Even if formulations comprising 5 mg and 20 mg of mitiglinide calcium hydrate per tablet are described in EP '342, EP '342 does not teach or suggest how to use the EP '342 formulations to achieve the above-mentioned unexpected effects of the present invention. Since Ohnota also does not teach or suggest an effective dosage to achieve the above effects achieved in accordance with the present invention, Applicants respectfully submit that it would not be obvious for one of ordinary skill in the art to reach the claims of the present application in the sense of finding the same anticipated or obvious even if the teaching of Ohnota and EP '342 were to be combined.

In view of the above, reconsideration and allowance of this application are now believed to be in order, and such actions are hereby solicited. If any points remain in issue which the Examiner feels may be best resolved through a personal or telephone interview, the Examiner is kindly requested to contact the undersigned at the telephone number listed below.

The USPTO is directed and authorized to charge all required fees, except for the Issue Fee and the Publication Fee, to Deposit Account No. 19-4880. Please also credit any overpayments to said Deposit Account.

Respectfully submitted,



Peter D. Olexy/  
Peter D. Olexy  
Registration No. 24,513

SUGHRUE MION, PLLC  
Telephone: (202) 293-7060  
Facsimile: (202) 293-7860

WASHINGTON OFFICE

23373

CUSTOMER NUMBER

Date: January 9, 2008

## PART 1

# 食後高血糖は動脈硬化を どのように惹起するのか?

## インスリン分泌異常、 食後高血糖

森 豊

(東京慈恵会医科大学糖尿病・代謝・内分泌内科助教授/国立療養所東宇都宮病院内科)

### 耐糖能別にみたインスリン分泌動態の変化

- ◆NGTからIFG、IGT、IFG/IGT、DMになるに従って、早期インスリン分泌の指標である△インスリン30分/△血糖30分は低下し、糖負荷後2時間インスリン値が上昇する、いわゆる“遅延過剰型のインスリン分泌動態”が観察された。

### 耐糖能別にみた動脈硬化危険因子

- ◆動脈硬化性疾患の病因として重要な役割を演じていることが指摘されている内臓脂肪はインスリン曲線下面積と連動してNGTからIFG、IGTになるに従って増加を示し、IGTをピークにIFG/IGT、DMになるに従って低下していく逆U字曲線が観察された。
- ◆NGTからIFG、IGT、IFG/IGT、DMになるに従って、LDL-C、TGは増加し、逆にHDL-Cは低下した。

### IFGとIGTの病態の違い

- ◆IGTはIFGと比較して、糖負荷後2時間血糖値、糖負荷後2時間インスリン値、インスリン曲線下面積、中性脂肪、尿酸、内臓脂肪面積は高値を、逆にHDL-Cは低値を示した。
- ◆同じ“境界型”に属する病態でも、IFGではなくIGTが多数の動脈硬化危険因子を併せもつ動脈硬化易発症病態であることが推察される。

### インスリン分泌異常と動脈硬化危険因子

- ◆2型糖尿病のインスリン分泌の特徴である早期インスリン分泌の低下は、食後高血糖や食後高中性脂肪血症をもたらすのみならず、遅延過剰型のインスリン分泌動態(食後高インスリン血症)を引き起こす。
- ◆早期インスリン分泌の低下、遅延過剰型のインスリン分泌動態を介して内臓脂肪蓄積が生じ、さらに脂質代謝異常や尿酸代謝異常が惹起されたり、動脈硬化に関連するアディポサイトカインが分泌されるという一連の流れが推察される。

以前から、IGTは動脈硬化性疾患発症のリスクであることが知られていたが、ヨーロッパ8カ国で実施された13のプロスペクティブスタディーを集計解析した疫学研究であるDECODE Study<sup>1)</sup>では、心血管系疾患死亡率と糖負荷後2時間血糖値の間には強い関係が認められるのに対し、空腹時血糖値に関しては145mg/dLを超えない限り死亡リスクは上昇しないことが報告されている。また、宮永ら<sup>2)</sup>は、舟形町の検診を受けた人々をコホート集団に設定してIFGとIGT<sup>\*1</sup>の動脈硬化性疾患の発症リスクを検討した結果、IGTの段階から循環器疾患による死亡率は高く、IGTが明らかにリスクファクターであったのに対し、IFGはNFGとそれほど差がなかったことから、IGTは動脈硬化性疾患の発症リスクがあるもののIFGにはないと結論づけている。さらに、RIAD (Risk factors in IGT for Atherosclerosis and Diabetes) 研究<sup>3)</sup>では、地域住民を対象にOGTTと頸動脈のBモードエコー検査を行い、ケース・コントロール研究の手法を用いて、動脈硬化の進展と正相関することが知られている頸動脈のIMT (intima-media thickness) を耐糖能別に比較している。この結果、平均IMTは、NGT/IFGと性・年齢を一致させたNGT/NFGの間、IGT/IFGと性・年齢を一致させたIGT/NFGの間には、いずれも有意差を認めないものの、IGT/IFGの平均IMTは、NGT/IFGと比較して有意に肥厚していたことから、IFGの有無ではなく、IGTの有無が動脈硬化と関連していると結論づけている。さらに、河盛<sup>4)</sup>もIGT症例におけるIMTを血糖応答曲線、インスリン反応の面から解析し、糖負荷後2時間の血糖値が高い程、そしてインスリン値が高い程、IMTが肥厚している成績など、IFGではなくIGTが動脈硬化性疾患と密接な関係をもっていることが報告されている。

そこで、本稿では、“何故、IGTが動脈硬化性疾患と関係しているのか？”を中心に、

インスリン分泌異常からみた動脈硬化危険因子の相互関連について、企業の健康診断の成績とOLETFラットの実験成績を紹介する。

### インスリン分泌異常と 動脈硬化危険因子：某企業の 健康診断データから

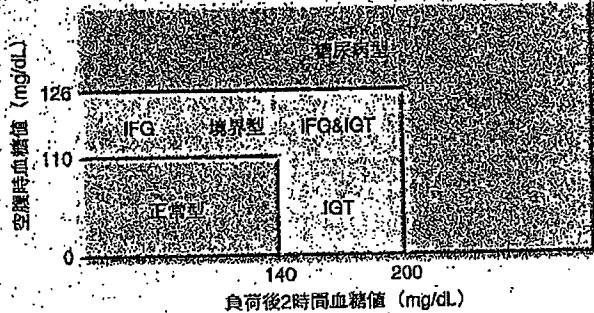
#### 1. 境界型から2型糖尿病への進展におけるインスリン分泌動態の変化

わが国の某企業健康管理センターが管理している約2万人の従業員の定期健康診断にて、空腹時血糖値が境界領域(110～125mg/dL)にあると診断された集団を抽出し、75g OGTTを行った。対象となった男性367名の耐糖能は、NGT：150名、単独IFG(IFG)：70名、単独IGT(IGT)：31名、IFG+IGT(IFG/IGT)：47名、DM：69名であり、こ

#### \*1 IFGとIGT

1997年、米国糖尿病学会(American Diabetes Association; ADA)は、糖尿病診断基準を改訂した。糖尿病の診断に75g OGTTは推奨せず、空腹時血糖値からみた糖尿病領域を140mg/dLから126mg/dLに引き下げることによって、糖尿病の検出率を高めようというものである。また、糖尿病のグレーゾーンとして、空腹時血糖値が110～125mg/dLを示すIFG(impaired fasting glucose)という新しいカテゴリーを設け、IGT(impaired glucose tolerance)の診断基準として、旧来のWHO(1985)の基準にある空腹時血糖値を削除し、75g OGTT2時間値140～199mg/dLのみとした。すなわち、日本糖尿病学会(1999)の“境界型”には、IFG、IGT、IFG+IGTの3つの病態が存在することになる。

IFG: Impaired Fasting Glucose      IGT: Impaired Glucose Tolerance  
空腹時高血糖      耐糖能障害



ブドウ糖負荷試験の診断区分

の75g OGTTにおける血糖応答とインスリン反応を耐糖能別に比較すると、NGTからIFG、IGT、IFG/IGT、DMになるに従って糖負荷後2時間の血糖値は上昇し、血糖曲線下面積は増加した<sup>5)</sup>(図1、2)。インスリン反応については、NGTからIFG、IGT、IFG/IGT、DMになるにしたがって△インスリン30分/△血糖30分<sup>\*2</sup>は低下し、糖負荷後120分インスリン値は増加した<sup>5)</sup>(図1、3)。すなわち、NGTからIFG、IGT、IFG/IGT、DMになるに従って、早期インスリン分泌の指標である△インスリン30分/△血糖30分は

低下し、糖負荷後2時間インスリン値が上昇する、いわゆる“遅延過剰型のインスリン分泌動態”が観察された。この成績は、Japanese Americanを対象としたKahnらの成績<sup>6)</sup>やフィンランド人を対象としたBotnia studyの成績<sup>7)</sup>に一致するものであり、2型糖尿病への進展に早期インスリン分泌の低下、欠如が人種を問わず重要な役割を演じているものと考えられる。

## 2. 耐糖能別にみた動脈硬化危険因子

### ① 内臓脂肪蓄積

この某企業の健康診断において、腹部臍高CT像による内臓脂肪面積を耐糖能別に比較すると、内臓脂肪面積はインスリン曲線下面積と連動してNGTからIFG、IGTになるに従って増加を示し、IGTをピークにIFG/IGT、DMになるに従って低下していく逆U字曲線が観察された<sup>8)</sup>(図4)。特に、IGTではIFGと比較して内臓脂肪面積が有意に高値を示し

\*2 Insulinogenic Index(△インスリン30分/△血糖30分)  
75g OGTTにおける、空腹時とブドウ糖負荷後30分における血糖の増加量に対するインスリン(IRI)の増加量の割合、△IRI/△血糖として算出される。2型糖尿病患者では、糖負荷後の早期のインスリン分泌、すなわち30分の上昇が乏しく、健常者に比べ著しく低い。一般に、糖尿病と非糖尿病を識別するcut off pointとしては0.4が妥当と考えられている。

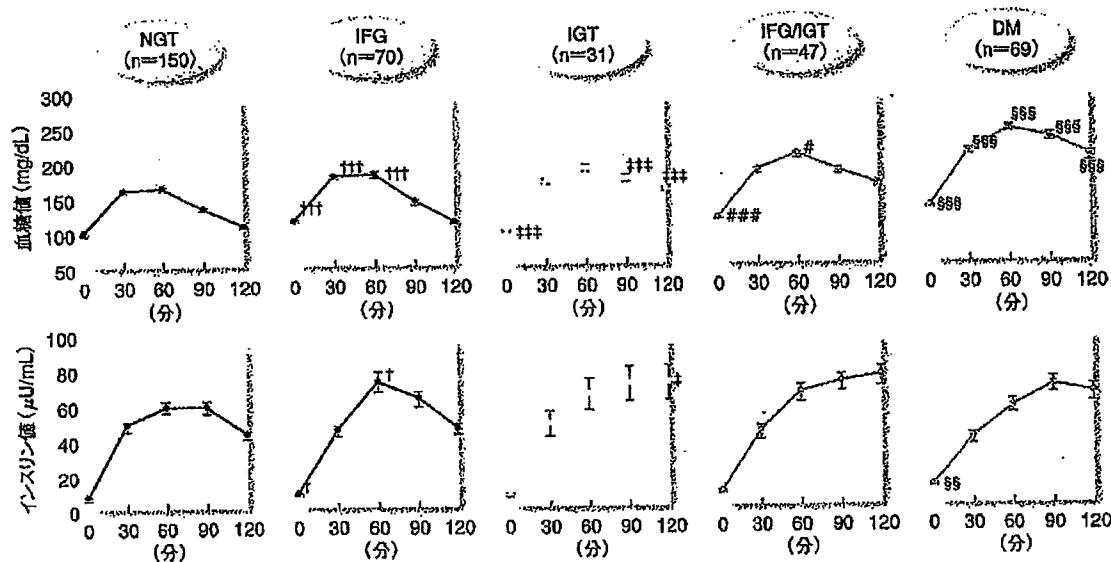


図1 耐糖能別にみた75g OGTTの血糖応答とインスリン反応(Mean±SEM)

††† : p<0.001、NGTとの比較、# : p<0.05、## : p<0.001、IFGとの比較、  
#: p<0.05、## #: p<0.001、IGTとの比較、§§ : p<0.01、§§§ : p<0.001、IFG/IGTとの比較

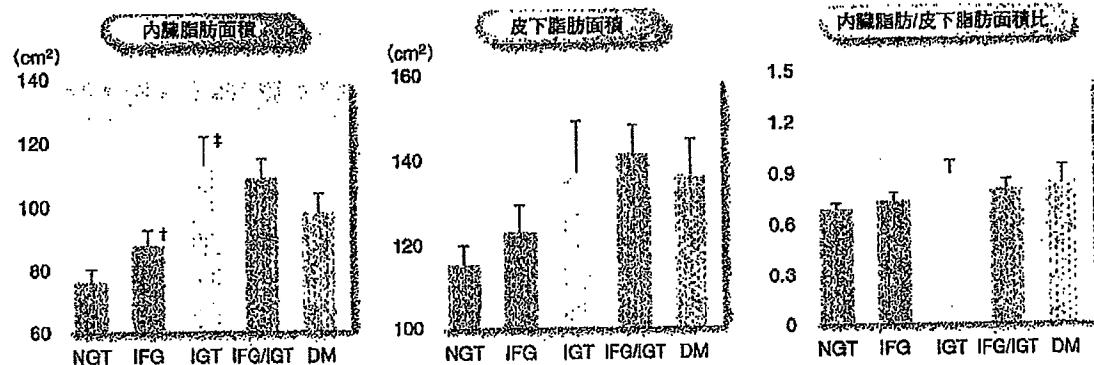
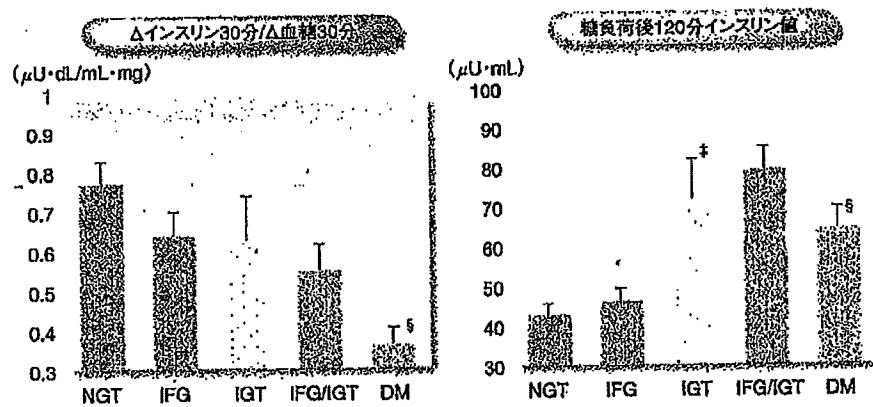
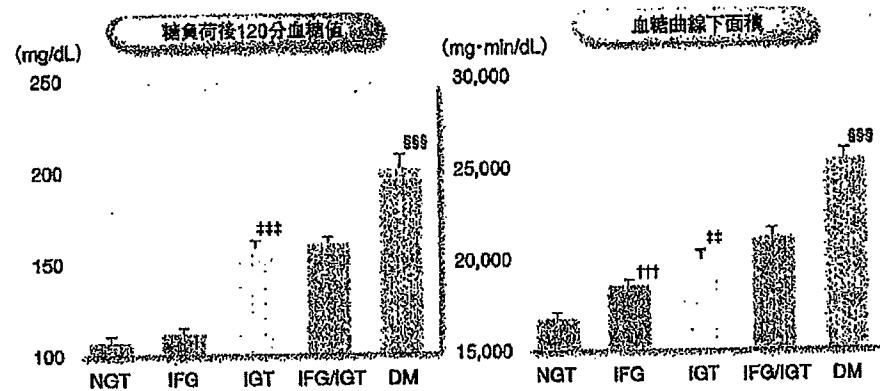


図4 耐糖能別にみた内臓脂肪面積、内臓脂肪/皮下脂肪面積比 (Mean±SEM)

†: p<0.05, NGTとの比較  
‡: p<0.05, IFGとの比較

た。内臓脂肪蓄積と冠動脈硬化の関係について、内臓脂肪蓄積が動脈硬化性疾患発症の病因として重要な役割を演じていることが指摘されている<sup>8,9</sup>。IGTでなぜ内臓脂肪が蓄積しているかについての理由は明らかではないが、今回の全症例を対象に行った単相関係数の解析(図5)では、初期インスリン分泌の低下に伴う糖負荷後2時間インスリン値の上昇が密接に関連しているものと考えられる。Boykoら<sup>10</sup>は、137名の非糖尿病のJapanese American男性を対象に5年間経過観察を行い、内臓脂肪の変化を検討した結果、ベースラインにおける空腹時インスリン、C-ペプチドと5年間の内臓脂肪変化量の間には有意な正の相関を、OGTTの△インスリン30分/△血糖30分と5年間の内臓脂肪変化量の間には有意な負の相関を認めたことから、インスリン抵抗性と初期インスリン分泌の低下が内臓

脂肪蓄積に先行すると結論付けている。また、脂肪細胞の細胞生物学的な特徴として、インスリンによる脂肪分解抑制作用、脂肪合成促進作用の感受性が、内臓脂肪と皮下脂肪で異なることが報告されており<sup>11,12</sup>、初期インスリン分泌の低下に伴う「食後高インスリン血症」といったインスリン分泌動態の異常が、インスリンによる脂肪分解抑制作用、脂肪合成促進作用の脂肪組織間での感受性の違いを介して体脂肪分布の変化を引き起こした可能性も考えられる。

## ②脂質代謝異常

次に、この某企業の健康診断における脂質代謝異常を耐糖能別に比較すると、NGTからIFG、IGT、IFG/IGT、DMになるに従ってLDL-C、中性脂肪は増加し、逆にHDL-Cは低下した<sup>5</sup> (図6)。特に、IFGとIGTを比較

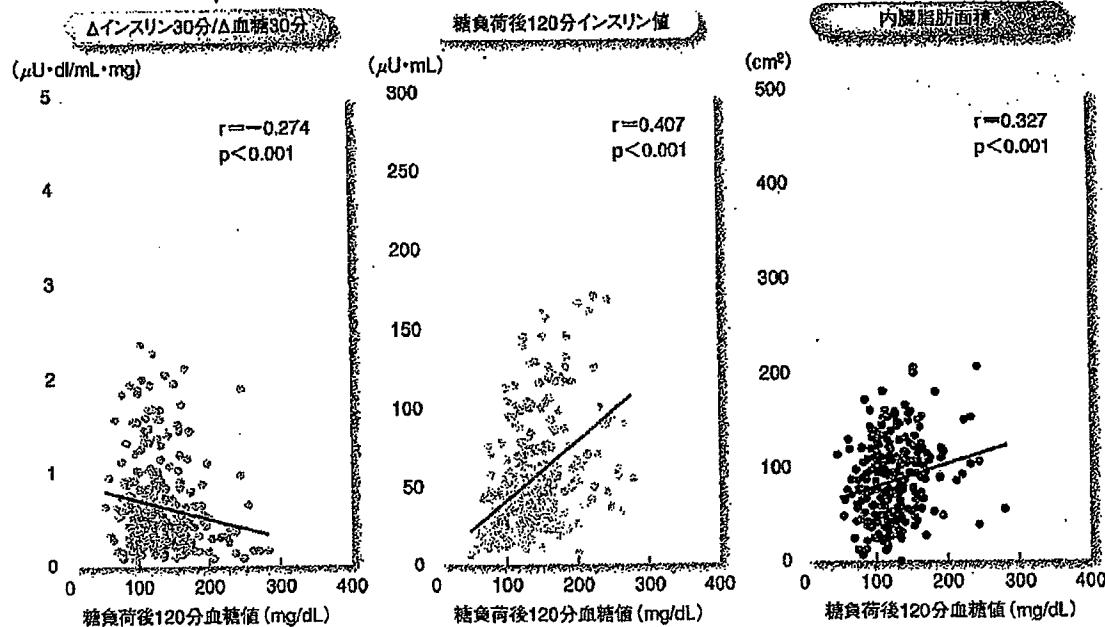


図5 糖負荷2時間後血糖値と△インスリン30分/△血糖30分、糖負荷2時間後インスリン値、内臓脂肪面積の単相関係数

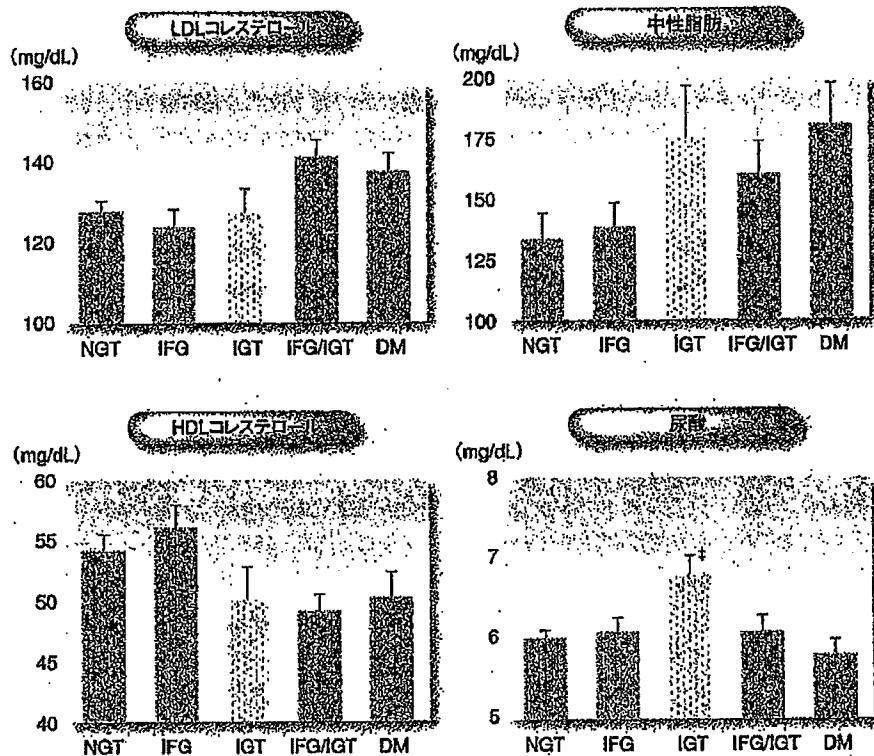


図6 耐糖能別にみた脂質代謝異常、尿酸代謝異常(Mean±SEM)

‡ : p&lt;0.05、IFGとの比較

すると、LDL-Cの差は著明ではなかったが、IGTはIFGと比較して中性脂肪は高く、HDL-Cは低かったことより、IGTでは特に高中性脂肪血症、低HDL-C血症などの脂質代謝異常が動脈硬化と関連しているものと考えられた。しかしながら、中性脂肪値とLDL-Cのサイズの間には、きわめて良好な負の相関があることが報告されており、高中性脂肪血症の多くは、易酸化性のsmall dense LDLを有することが指摘されている<sup>14)15)</sup>ことから、LDL-Cについては、量的異常以上にその質的異常も存在することが推察される。

### ③血圧

次に、この某企業の健康診断における血圧

を耐糖能別に比較すると、NGT ( $127 \pm 1.4/77 \pm 0.9$ )、IFG ( $131 \pm 2.1/81 \pm 1.4$ )、IGT ( $127 \pm 3.4/78 \pm 1.9$ )、IFG/IGT ( $138 \pm 2.4/85 \pm 1.6$ )、DM ( $134 \pm 2.7/82 \pm 1.6$ ) であり、NGTからIFG、IFG/IGTになるに従つて、収縮期、拡張期ともに上昇し、IFG/IGTの血圧はIGTと比較して有意に上昇していたが、IGTの血圧はIFGと比較してもむしろ低下傾向であった<sup>16)</sup>。インスリン抵抗性、高インスリン血症と血圧の関係については、すでに多数報告されているが、今回の成績でもNGTからIFG、IGT、IFG/IGTまでの血圧の変化が、HOMA-Rの変化<sup>17)</sup>と連動していた点は興味深い。

#### ④尿酸代謝異常

次に、この某企業の健康診断における尿酸代謝異常を耐糖能別に比較すると、NGTか

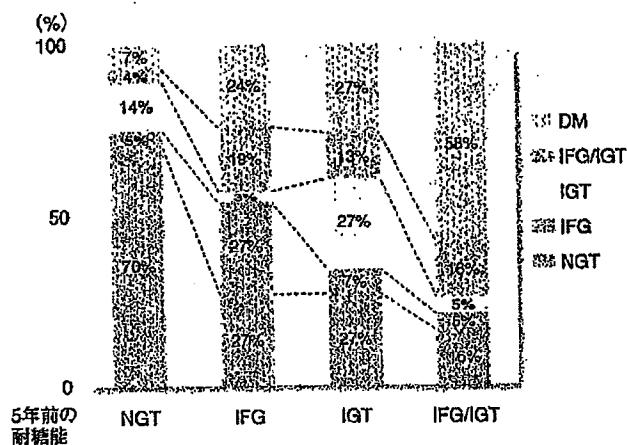


図7 耐糖能別にみた5年後の糖尿病への移行率

空腹時血糖値 糖負荷後血糖値 血糖曲線下面積	IFG* > IGT IFG < IGT* IFG < IGT*
糖負荷後インスリン値 インスリン曲線下面積	IFG < IGT* IFG < IGT
HOMA-R HOMA- $\beta$ cell	IFG > IGT IFG < IGT*
中性脂肪 HDLコレステロール 尿酸	IFG < IGT IFG > IGT IFG < IGT*
内臓脂肪面積 皮下脂肪面積	IFG < IGT* IFG < IGT

\*:有意差あり

表1 IFGとIGTの病態の違い

#### \*3 OLETF ラット

OLETF(Otsuka Long Evans Tokushima Fatty)ラットは、大塚製薬の河野らによって確立された肥満を伴った自然発症の2型糖尿病モデルである。インスリン抵抗性、腹腔内脂肪蓄積を伴い、加齢とともにIGTから2型糖尿病へ進展する。糖負荷後の血糖値やインスリン値が上昇するのが特徴であり、顕著な高甘油三酯血症、軽度の血圧上昇を伴い最終的に冠動脈硬化所見が病理組織学的に観察されるようになる。

らIFG、IGTになるに従って増加を示し、IGTをピークにIFG/IGT、DMになるに従って低下していく逆U字曲線が観察された<sup>5)</sup>(図6)。特に、IFGとIGTを比較すると、IGTはIFGと比較して有意に高値を示した。現在、高尿酸血症は、虚血性心疾患を始めとする動脈硬化性疾患の危険因子と考えられており<sup>16-18)</sup>、インスリン抵抗性に関わる種々の病態として高尿酸血症もSyndrome X plus<sup>19)</sup>に加えられている。最近、高尿酸血症と高甘油三酯血症が、解糖系のグリセルアルデヒド3-ホスフェートデヒドロゲナーゼ(GA3PDH)を軸としてインスリン抵抗性状態と結びついている可能性が示唆されている<sup>20)</sup>。今回の成績でもNGTからIFG、IGTへの移行に伴う尿酸値の変化が内臓脂肪の変化と連動したことは、興味深い。また、尿酸値がIGTをピークにIFG/IGT、DMになるに従って低下していく理由としては、HbA<sub>1c</sub>の変化<sup>6)</sup>からも明らかのように、血糖の上昇による尿糖排泄の増加に伴い、腎臓からの尿酸排泄も増加し、結果として血清尿酸値の低下をもたらした可能性が考えられる。

#### ⑤糖尿病発症リスク

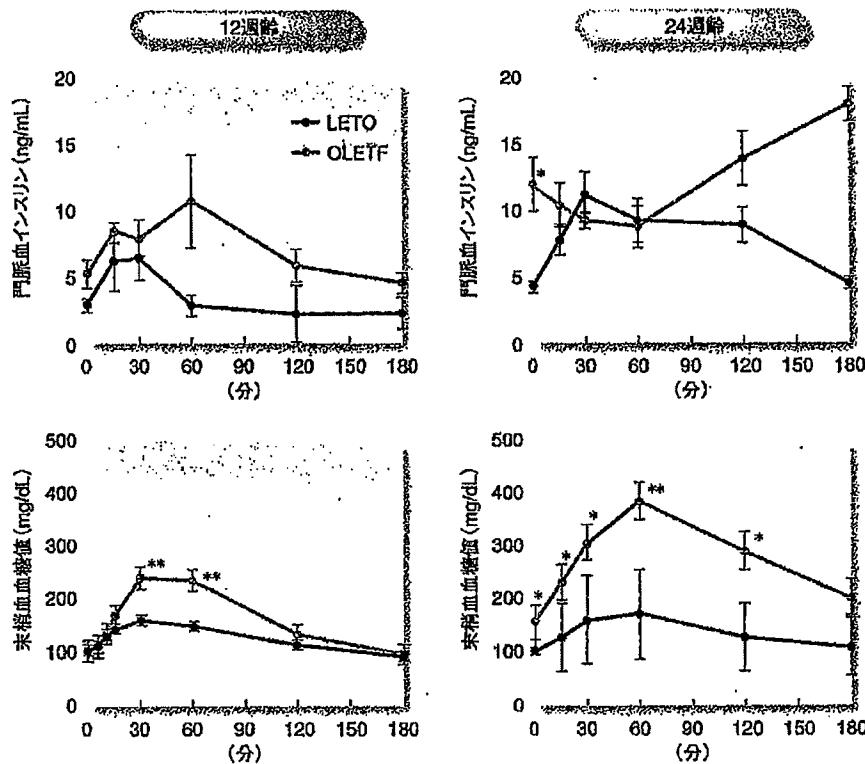
次に、この某企業の健康診断の75g OGTTにおいて、糖尿病でなかった症例(NGT、IFG、IGT、IFG/IGTの298名)について、糖尿病発症のリスクを耐糖能別に比較すると、5年後にOGTTを実施し得た127名(5年前の耐糖能/NGT:56名、IFG:37名、IGT:15名、IFG/IGT:19名)のうち、5年後に糖尿病へ移行したケースが28例観察された。この28症例のベースラインにおける耐糖能は、NGT:4名、IFG:9名、IGT:4名、IFG/IGT:11名であった。すなわち、NGTは56名中4名(7%)、IFGは37名中9名(24%)、IGTは15名中4名(27%)、IFG/IGTは19名中11名(58%)が、5年後に糖尿病へ移行した<sup>5)</sup>(図7)。この成績は、両者

が合併すると移行率は高まるものの、Mauritiusで検討された成績<sup>21)</sup>と同じく、IFGとIGTについては糖尿病への移行はほぼ同程度であり、IGTの動脈硬化との関連は、糖尿病発症リスクの違いによるものとは考えにくい。

#### ⑥IFGとIGTの病態の違い(表1)

以上の成績について、IFGとIGTの病態について違いを比較してみると、IGTはIFGと比較してOGTTにおける糖負荷後血糖値、血糖曲線下面積は高値を示した。また、IGTはIFGと比較して糖負荷後インスリン値は高く、インスリン曲線下面積も高値を示した。さら

に、IGTはIFGと比較して、中性脂肪、尿酸、内臓脂肪面積は高値を示し、HDL-Cは低値を示した。一方、HOMA指数に関して、HOMA-RはIFGの方が高値を示し、逆にHOMA-β cellはIGTの方が高値を示した。すなわち、IGTはIFGと比較して、糖負荷後2時間血糖値、糖負荷後2時間インスリン値、インスリン曲線下面積、中性脂肪、尿酸、内臓脂肪面積は高値を、逆にHDL-Cは低値を示し、同じ“境界型”に属する病態でも、IFGではなくIGTが多数の動脈硬化危険因子を併せもつ動脈硬化易発症病態であることが推察される。



図B OLETFラットにおける糖負荷後の門脈血中のインスリン分泌動態と末梢血の血糖値 (Mean±SEM)

12週齢OLETFラット(n=8)と同齢対照LETOラット(n=8)、24週齢OLETFラット(n=6)と同齢対照LETOラット(n=6)の門脈内にカテーテルを挿入留置し、17時間絶食下、無麻酔、無拘束下で1g/kg OGTTを行った。門脈内に留置した

カテーテルより門脈血を、尾静脈より末梢血を経時に採取した。

\*: p<0.05, \*\*: p<0.001, 対照LETOラットとの比較

## 早期インスリン分泌と食後高血糖、食後高脂血症：OLETFラットの実験データから

### 1. Postprandial diseaseモデルとしてのOLETFラット<sup>\*3</sup>

肥満を伴った自然発症2型糖尿病モデルであるOLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) ラット<sup>22,23)</sup>は、インスリン抵抗性、腹腔内脂肪蓄積を伴い、加齢に伴いIGTから2型糖尿病へ進展し、顕著な高中性脂肪血症を合併する。本ラットの高血糖、高インスリン血症、高中性脂肪血症の特徴は、いずれも絶食時よりも非絶食時においてより顕著に観察される点である。また、軽度

の血圧上昇を伴い、最終的に左前下降枝を中心とする冠動脈硬化所見が病理組織学的に観察される。すなわち、本ラットはヒトの食後高血糖、食後高インスリン血症、食後高脂血症といったpostprandial diseaseの病態を全て兼ね備えたモデル動物であり、この病態の解明には最適のモデル動物と考えられる。

### 2. OLETFラットの病期の進行に伴う早期インスリン分泌の変化

このOLETFラットは、加齢すなわち病期の進行に伴い、末梢血の糖負荷後血糖値が上昇するが(図8)、この時の糖負荷後の早期インスリン分泌とインスリン分泌動態の変化を門脈血において観察したところ、前糖尿病期である12週齢における門脈血のインスリン分

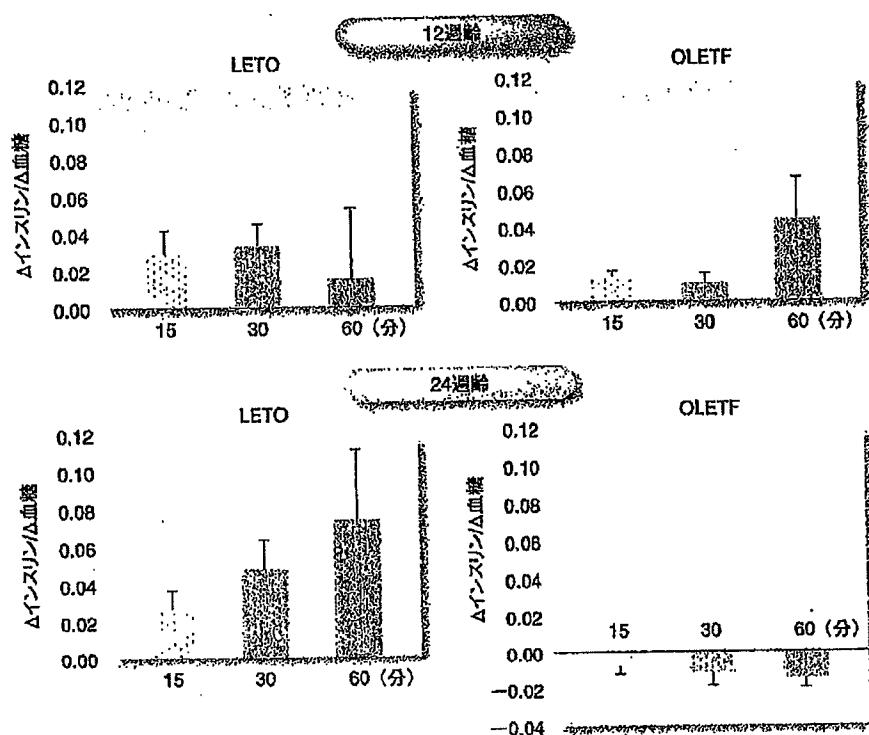


図9 OLETFラットにおける糖負荷後の門脈血中の早期インスリン分泌の加齢に伴う変化 (Mean±SEM)

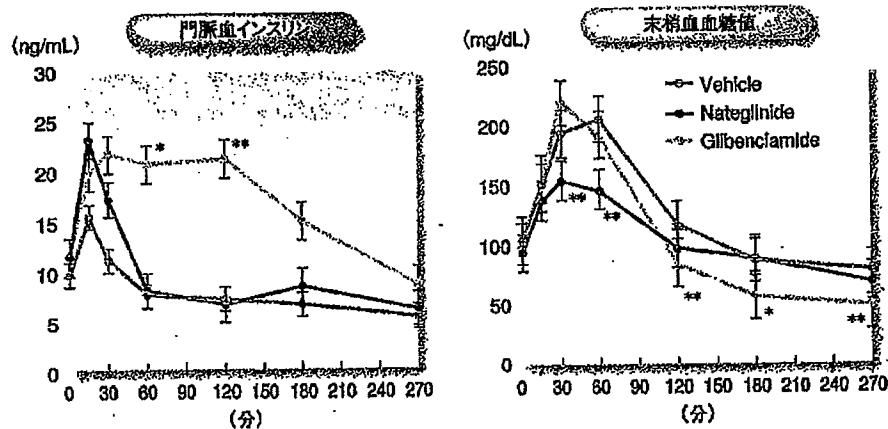


図10 OLETFラットの糖負荷後の門脈血中のインスリン分泌と末梢血の血糖値に及ぼすインスリン分泌刺激薬の急性効果 (Mean±SEM)

12週齢OLETFラットの門脈内にカテーテルを挿入留置し、17時間絶食下、無麻酔、無拘束下で1g/kg OGTTを行った。すなわち、ナテグリニド(NAT)50mg/kg(n=8)、グリベンクラミド(GB)1mg/kg(n=8)、または対照として5%メチルセ

ルロース(MC)(n=8)を経口投与後、ただちにブドウ糖を1g/kg経口投与し、門脈内に留置したカテーテルより門脈血を、尾静脈より末梢血を経時に採血した。

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01, Vehicleとの比較

泌の頂値は60分であり、正常対照LETOラットと比較してすでに遅延しており、糖尿病発症の病期にある24週齢では、糖負荷後60分まではインスリンの上昇は認められず、60分以後上昇していく典型的な“遅延過剰型のインスリン分泌動態”が観察された<sup>24)</sup>(図8)。12週齢OLETFラットの門脈血△インスリン15分/△血糖15分、△インスリン30分/△血糖30分は、LETO群と比較してすでに低下しており、24週齢OLETFラットでは、ほぼ完全に消失していた<sup>24)</sup>(図9)。すなわち、自然発症の2型糖尿病モデル動物であるOLETFラットにおいても、ヒト2型糖尿病と同様、IGTから2型糖尿病といった病期の進行に伴い、糖負荷に対する早期のインスリン分泌が低下していくのが確認された。

### 3. 食後高血糖における

#### 早期インスリン分泌の役割

食後高血糖における早期インスリン分泌の役割を検討する目的で、ナテグリニド(NAT)、

グリベンクラミド(GB)を単回投与し、門脈内で異なるインスリン分泌動態を惹起させた時の糖負荷後血糖値に及ぼす影響を検討した。門脈におけるNAT群のインスリン値は、15分を頂値とした急速な増加が認められ、60分では0分値以下に戻ったのに対して、GB群では60分以降も増加は持続し、かつNAT群と比較して高値であった(図10)。末梢血における血糖値は、NAT群では30分、60分、GB群では120分以降で対照群と比較して有意な低下が認められた(図10)。このナテグリニドのみが糖負荷後短時間での血糖を低下させた実験成績は、食後高血糖には、早期インスリン分泌が重要な役割を演じていることを強く示すものである。

### 4. 食後高脂血症における

#### 早期インスリン分泌の役割

次に、食後高脂血症における早期インスリン分泌の役割を検討する目的で、ナテグリニド、グリベンクラミドを単回投与し、脂肪負

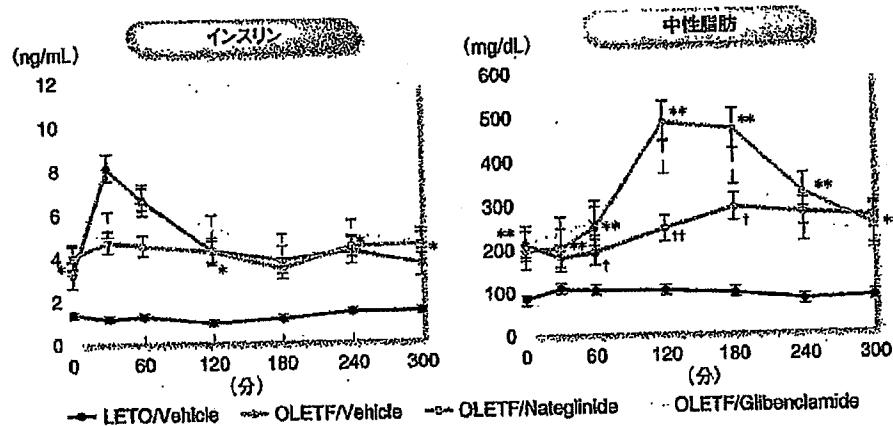


図11 OLETFラットの脂肪負荷後の末梢血中のインスリン分泌と中性脂防値に及ぼすインスリン分泌刺激薬の急性効果 (Mean±SEM)

24週齢OLETFラットと正常対照LETOラットを17時間絶食下、無麻酔、無拘束下で、脂肪負荷試験を行った。すなわち、OLETFラットに対してはNAT(n=6)、GB(n=6)、またはMC(n=6)を経口投与後、LETOラット(n=7)に対しては

MCを経口投与後、ただちに脂肪乳化液(大豆油2g/kg)を経口投与し、尾静脈より末梢血を経時に採血した。

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01, LETO/Vehicleとの比較

†: p<0.05, ††: p<0.01, OLETF/Vehicleとの比較

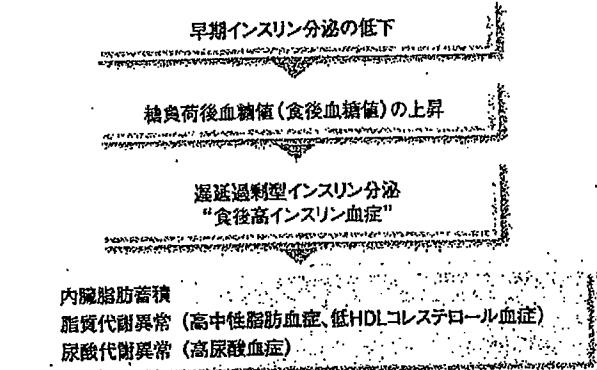


図12 インスリン分泌動態と内臓脂肪蓄積、脂質代謝異常、尿酸代謝異常

荷後の末梢血における中性脂肪の上昇に及ぼす影響を検討したところ、NATは脂肪負荷後30分を頂値とした急峻なインスリン分泌を促し、脂肪負荷後60分、120分、180分の中性脂肪値を有意に低下させた(図11)のに対し、GBにより促された持続性のインスリン分泌動態は、脂肪負荷後の中性脂肪値を低下

させなかった(図11)。この実験成績から、2型糖尿病における食後高中性脂肪血症にも、早期インスリン分泌が重要な役割を演じていることが示唆された。

### インスリン分泌異常と動脈硬化危険因子の相互関連

先に述べたように、2型糖尿病のインスリン分泌の特徴である早期インスリン分泌の低下は、食後高血糖や食後高中性脂肪血症をもたらすのみならず、遅延過剰型のインスリン分泌動態(食後高インスリン血症)を引き起します。運動習慣のある例では、分泌されたインスリンによりブドウ糖が積極的に筋肉に取り込まれるもの、運動不足例では、インスリンが脂肪細胞、特に内臓脂肪組織の脂肪細胞にブドウ糖や脂肪を取り込ませ、結果として肥満、内臓脂肪蓄積を惹起する(図12)。さらに、インスリン作用が低下し、食後血糖値がより上昇すると、食後血糖の上昇に刺激さ

れ分泌されたインスリンにより、ますます肥満が助長されるといった悪循環を形成することとなる。すなわち、早期インスリン分泌の低下といったインスリン分泌異常が一連の現象の上流に存在し、早期インスリン分泌の低下、遅延過剰型のインスリン分泌動態（食後高インスリン血症）を介して内臓脂肪蓄積が生じ、そこからさらに脂質代謝異常や尿酸代謝異常が惹起されたり、動脈硬化に関連するアディポサイトカインが分泌されるのではないかという流れが推察される。食後血糖値が急峻に上昇する胃切除後患者が、IGTと同様に

動脈硬化性疾患発症のリスクを有するといった報告は現在のところなく、きわめて独創的な考え方をすれば、食後高血糖自体が単独で動脈硬化を惹起するとは考えにくい。食後高血糖自体が血管内皮障害を引き起こすといった機序も当然考えられることながら、やはり食後高血糖を取り巻く早期インスリン分泌の低下といったインスリン分泌異常がもたらす食後高インスリン血症、食後高脂血症、内臓脂肪蓄積などが集合体となって動脈硬化易発症病態を形成していると考えるのが妥当と思われる。

#### 文献

- 1) DECODE Study Group: Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. *Lancet* 354: 617, 1999.
- 2) Tomlinson M, Eguchi H, Manaka H, et al: Impaired glucose tolerance is a risk factor for cardiovascular disease, but not impaired fasting glucose. *Diabetes Care* 22: 920-924, 1999.
- 3) Hanefeld M, Tamekova-Kurtschleib T, Schaper F, et al: Impaired fasting glucose is not a risk factor for atherosclerosis. *Diabet Med* 16: 212-218, 1999.
- 4) Kawamoto R: Asymptomatic hyperglycemia and early atherosclerotic changes. *Diab Res Clin Pract* 40: S35-S42, 1998.
- 5) 森 基、横瀬琢男、田嶋尚子: インスリン抵抗性、糖負荷後のインスリン分泌、脂質代謝異常、尿酸代謝異常、体脂肪分布、ならびに糖尿病への移行率からみたIGTとIFGの病態の違い. *Prog Med* 22: 1737-1746, 2002.
- 6) Kahn SE, Verchen CB, Andrikopoulos S, et al: Reduced amylin release is a characteristic of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes in Japanese Americans. *Diabetes* 47: 640-645, 1998.
- 7) Tripathy D, Carlsson M, Almgren P, et al: Insulin secretion and insulin sensitivity in relation to glucose tolerance, Lessons from the Botnia study. *Diabetes* 49: 976-980, 2000.
- 8) Nakamura T, Tokunaga K, Shimomura I, et al: Contribution of visceral fat accumulation to the development of coronary artery disease in non-obese men. *Atherosclerosis* 107: 239-246, 1994.
- 9) 森 基、上原良樹、田嶋尚子、ほか: 冠動脈硬化危険因子としての内臓脂肪蓄積、糖尿病合併症 10: 133-137, 1997.
- 10) Boyko EJ, Leonetti DL, Bergstrom RW, et al: Low insulin secretion and high fasting insulin and C-peptide levels predict increased visceral adiposity. 5-year follow-up among initially nondiabetic Japanese-American men. *Diabetes* 45: 1010-1015, 1996.
- 11) Bolinder J, Kager L, Ostman J, Arner P: Differences at the receptor and postreceptor levels between human omental and subcutaneous adipose tissue in the action of insulin on lipolysis. *Diabetes* 32: 117-123, 1983.
- 12) Björntorp P: Adipose tissue distribution and function. *Int J Obes* 15 (Suppl 2): 67-81, 1991.
- 13) Yoshida S, Inadera H, Ishikawa Y, et al: Endocrine disorders and body fat distribution. *Int J Obes* 15 (Suppl 2): 67-81, 1991.
- 14) Feingold KR, Grunfeld C, Pang M, et al: LDL subclass phenotypes and triglyceride metabolism in non-insulin-dependent diabetes. *Arterioscler Thromb* 12: 1496-1502, 1992.
- 15) Coresh J, Kwiterovich PO Jr, Smith HH, Bachorik PS: Association of plasma triglyceride concentration and LDL particle diameter, density, and chemical composition with premature coronary artery disease in men and women. *J Lipid Res* 34: 1687-1693, 1993.
- 16) Brand FN, McGee DL, Kannel WB, et al: Hypertriglyceridemia as a risk factor of coronary heart disease: The Framingham study. *Am J Epidemiol* 121: 11-18, 1985.
- 17) Fessel WJ: High uric acid as an indicator of cardiovascular disease. *Am J Med* 68: 401-404, 1980.
- 18) Freedman DS, Williamson DF, Gunter EW, Byers T: Relation of serum uric acid to mortality and ischemic heart disease. *Am J Epidemiol* 141: 637-644, 1995.
- 19) Zimmet PZ: Kelly West Lecture 1991 Challenges in diabetes epidemiology-From west to the rest. *Diabetes Care* 15: 232-252, 1992.
- 20) Leyva F, Wingrove CS, Godslan IF, Stevenson JC: The glycolytic pathway to coronary heart disease: A hypothesis. *Metabolism* 47: 657-662, 1998.
- 21) Shaw JE: Impaired fasting glucose or impaired glucose tolerance. What best predicts future diabetes in Mauritius? *Diabetes Care* 22: 399-402, 1999.
- 22) Kawano K, Hirashima T, Mori S, et al: Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications, Otsuka Long-Evans Tokushima fatty (OLETF) strain. *Diabetes* 41: 1422-1428, 1992.
- 23) Mori Y, Ikeda Y: Similarity and dissimilarity between the OLETF rats and obese subjects with NIDDM. In "Obesity and NIDDM, Lessons from the OLETF rat" (K Shima ed), Elsevier Science B.V., Amsterdam, 1999, p237-244.
- 24) 森 基、北原良朗、三浦泰子、田嶋尚子: 自然発症糖尿病 OLETFラットの門脈血における糖負荷後インスリン分泌に及ぼすナテグリニドの急性効果. *Prog Med* 22: 1263-1273, 2002.